

ANALISIS JENIS PIGMEN DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK PIGMEN XANTOFIL PADA ALGA COKLAT *Sargassum polycystum* (C.Agardh)

Darus S. J. Paransa¹, Kurnia Kemer¹, Antonius P. Rumengan¹ dan Desy M. H. Mantiri¹

¹Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat (E-mail: darusparansa@yahoo.com)

ABSTRACT

The separation of algae extracts in a Thin Layered Chromatography used Matsjeh method, covering plate preparation, sample application, plate development and visualization. In addition, the pigment types of brown algae, *Sargassum Polycystum* (C. Agardh), were β -caroten, pheofitine, chlorophyll-a and lutein. The pigment types of extracts dissolved difference were β -caroten, xanthofil (zeaxanthin and lutein), chlorophyll-a and chlorophyll-c. The antibacterial activity test used Kirby-Bauer method. Results indicated that the extracts of *S. Polycystum*, had antibacterial activity on four test bacteria, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella paratiphy b* and *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci: Algae, *Sargassum Polycystum*, pigment and antibacterial

PENDAHULUAN

Menurut Bold and Wynne (1985) alga diklasifikasikan dalam empat kelas besar yaitu Chlorophyceae (alga hijau), Cyanophyceae (alga hijau-biru), Phaeophyceae (alga coklat), dan Rhodophyceae (alga merah). Setiap kelas alga memiliki ciri warna tertentu, karena adanya jenis pigmen yang dikandungnya. Alga mengandung tiga jenis pigmen utama yaitu : klorofil, karotenoid, dan fikobilin.

Menurut Mantiri dan Kepel (1999), pigmen karotenoid dapat berperan sebagai provitamin A, sebagai antioksidan, pencegah kanker dan sebagai pewarna alami. Menurut Anggrahini (2002), pigmen karotenoid dari alga coklat dapat dijadikan sebagai bahan sediaan obat antibakteri. antibakteri adalah substansi yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme bahkan dapat menghancurkan atau membunuhnya (Setiabudy dkk., 1980).

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih. Cara pemisahan dengan absorpsi lapisan tipis yang sekarang dikenal dengan kromatografi lapis tipis (KLT) sebenarnya telah dipakai oleh Ismailov dan Shraiber sejak tahun 1938 (Adnan, 1997).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan pigmen dan aktivitas antibakteri dari alga coklat *Sargassum polycystum* (C.A Agardh).

METODE PENELITIAN

Sampel alga coklat yang digunakan dalam penelitian diambil dari perairan pantai Rap-rap. Sampel diambil pada kedalaman ± 30 cm dengan menggunakan tangan.

Ekstraksi

Sampel alga coklat *Sargassum polycystum* yang digunakan di ekstraksi menggunakan larutan aseton dan petroleum eter. Hasil Ekstrak Pigmen Total dipekatkan dengan alat Rotary Vaccum Evaporator pada suhu 30 °C dan tekanan 556 Mbar.

Isolasi Jenis Pigmen

Isolasi jenis pigmen pada ekstrak alga coklat *Sargassum polycystum* (C. Agardh) menggunakan analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) mengikuti metode Matsjeh (1999). Pengembang yang digunakan dalam pemisahan jenis pigmen menggunakan larutan pengembang petroleum eter dan aseton dengan perbandingan 80 : 20. Hasil pengambangan tersebut akan menghasilkan fraksi-fraksi yang selanjutnya di analisis dengan spektrofotometer sehingga ditemukan jenis pigmennya. Jenis pigmen yang teridentifikasi dalam golongan pigmen xantofil akan dilanjutkan dengan uji antibakteri.

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan dua metode yaitu metode Kirby - Bauer atau difusi agar dan metode pengenceran. Metode difusi agar diperkenalkan pertama kali oleh William Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966. Metode ini didasarkan pada hubungan ukuran zona hambat dan sensitivitas atau resistensi bakteri pada konsentrasi tertentu.

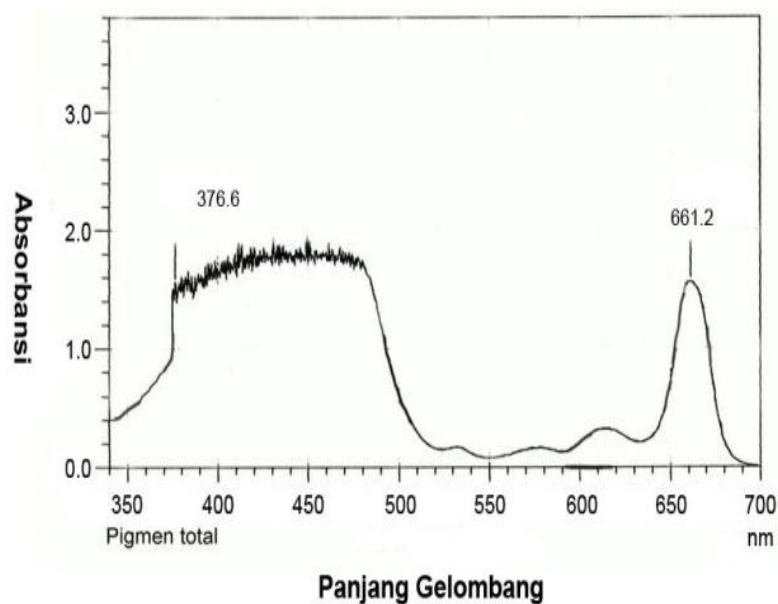
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak pigmen total dalam petroleum eter dibagi menjadi dua bagian: bagian yang pertama digunakan untuk serapan spektrofotometer dan dilanjutkan dengan analisis kromatografi lapis tipis, sedangkan bagian ekstrak yang lain diekstraksi lanjut berdasarkan beda pelarut. Ekstrak yang berwarna hijau diasumsikan mengandung pigmen klorofil maka serapan spektrofotometer dilakukan diantara panjang gelombang 350-700 nm.

Tabel 1. Serapan maksimum spektrofotometer ekstrak pigmen total dari alga coklat *Sargassum polycystum* (C.Agardh)

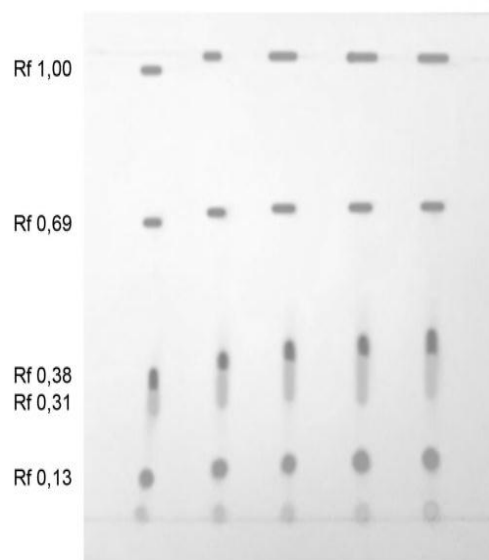
Serapan Maksimum Spektrofotometer (nm)		
Ulangan 1		
1	2	3
376,6-661,2	375,3-660,3	375,7-661,2

Berdasarkan Tabel 1 di atas, masing-masing ekstrak pigmen total dari alga coklat *Sargassum polycystum* (C.A. Agardh) membentuk dua puncak serapan maksimum pada panjang gelombang yang berbeda. Salah satu bentuk spectrogram ekstrak pigmen total dari alga coklat *Sargassum polycystum* (C.A. Agardh) tampak pada Gambar 1.

**Gambar 1.** Hasil analisis spectrogram ekstrak pigmen total alga coklat *Sargassum polycystum* (C. Agardh)

Bentuk serapan maksimum spektrofotometer, puncak gelombang pertama berada pada panjang gelombang 376,6 nm, sedangkan serapan maksimum spektrofotometer puncak gelombang kedua berada pada panjang gelombang 661,2 nm. Bentuk spectrogram tersebut diasumsikan masih terjadi pencampuran jenis pigmen sehingga belum mampu mengidentifikasi jenis pigmennya. Menurut Britton *dkk.* (1995) pencampuran jenis pigmen dari suatu ekstrak organisme dapat

dipisahkan, menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan pengembang tertentu. Selanjutnya menurut Mantiri (1997) pemisahan senyawa karotenoid dari suatu ekstrak dapat digunakan pengembang semipolar yaitu petroleum eter dan aseton dengan perbandingan 80 : 20.



Gambar 2. Kromatogram hasil migrasi kromatografi lapis tipis dari ekstrak alga coklat *Sargassum polycystum* (C.Agardh) dengan pengembang petreoleum eter dan aseton (80:20).

Berdasarkan hasil analisis KLT ekstrak pigmen total dalam petroleum eter terbentuk 5 fraksi. Kelima fraksi yang terbentuk di atas plat silika gel kemudian di isolasi dengan aseton dan diidentifikasi jenis pigmennya menggunakan alat spektrofotometer, seperti tampak pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis kromatografi lapis tipis dari serapan maksimum spektrofotometer ekstrak pigmen total alga coklat *Sargassum polycystum* (C. Agardh)

Fraksi	Nilai Rf	Panjang Gelombang	Warna	Jenis pigmen
1	1,00	434-450-481	Kuning	β karoten
2	0,69	404-661	Abu-abu	Tipe feofitin
3	0,38	428-662	Hijau	Klorofil a
4	0,31	428-662	Hijau	Klorofil a
5	0,13	420- 444- 473	orange	Tipe lutein

Tabel 3. Diameter Rata-Rata Zona Hambat (mm) dari Larutan Uji Ekstrak Pigmen Total dan Pigmen Tipe Ekinenon Terhadap bakteri uji

No	Nama Bakteri	Diameter Rata-rata Zona Hambat (mm) Ekstrak Pigmen		Diameter Rata-rata Zona Hambat		
		Pigmen Total	Tipe Ekinenon	Ampisilin	PE	
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	8,33	10,67	12	0	+
2	<i>Klebsiella pneumonia</i>	8	10,33	12,67	0	-
3	<i>Salmonella paratiphy b</i>	7.67	10	12,67	0	-
4	<i>Escherichia coli</i>	6,67	10	10	0	-
5	<i>Aeromonas hydrophila</i>	0	0	14	0	-
6	<i>Edwardsiella tarda</i>	0	0	12	0	-
7	<i>Enterobacter cloacea</i>	0	0	10	0	-
8	<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	14	0	-
9	<i>Proteus stuartii</i>	0	0	14	0	-

Dalam proses ekstraksi lanjut, larutan Ekstrak Pigmen Total dalam petroleum eter yang ditambahkan metanol terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan bawah ekstrak dalam Dietil Eter (DE) dan lapisan atas ekstrak dalam Petroleum Eter (PE). Hasil pemisahan berdasarkan Beda Pelarut pada ekstrak pigmen total, dihasilkan empat macam ekstrak yaitu ekstrak β -karoten, xantofil (zeaxanthin dan Lutein), klorofil a dan klorofil c.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa larutan uji ekstrak pigmen total karotenoid dan pigmen tipe ekinenon dari alga coklat *Sargassum polycystum* (C. Agardh) memiliki aktivitas antibakteri pada 4 bakteri uji dari 15 bakteri yang di ujikan. Ukuran zona hambat yang terbentuk relatif lebih kecil, jika dibandingkan dengan ukuran zona hambat yang dibentuk oleh senyawa antibiotika pembanding. Hasil pengukuran diameter rata-rata zona hambat dapat dilihat pada Tabel 3.

Pada Tabel 3 tampak diameter zona hambat rata-rata terbesar dari senyawa pigmen tipe ekinenon terdapat pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona

hambat sebesar 12,67 mm. Sedangkan zona hambat yang terkecil terdapat pada bakteri uji *Escherichia coli* dan *Salmonella paratiphy b* dengan diameter zona hambat sebesar 10 mm. Kesamaan diameter zona hambat yang dibentuk oleh pigmen tipe ekinenon pada kedua bakteri ini, diasumsikan karena kedua bakteri ini memiliki sensitivitas yang sama terhadap senyawa pigmen tipe ekinenon.

Kemampuan ekstrak pigmen tipe ekinenon dalam menghambat bakteri uji tersebut diduga bukan berasal dari pigmen ekinenon murni tapi berasal dari pencampuran senyawa pigmen yang membentuk pigmen tipe ekinenon. Pencampuran senyawa pigmen tipe ekinenon berdasarkan penelitian sebelumnya diperoleh pigmen isokriptosantin yang direduksi dari pigmen tipe ekinenon. Terbentuknya pigmen isokriptosantin dari pigmen tipe ekinenon, disebabkan gugus karbonil yang terikat pada salah satu rantai siklik pigmen ekinenon menerima elektron H^+ sehingga gugus karbonil tersubstitusi menjadi gugus hidroksil.

KESIMPULAN

Jenis pigmen yang teridentifikasi pada ekstrak pigmen total alga coklat *Sargassum polycystum* (C.Agardh) menggunakan metode kromatografi lapis tipis dan metode spektrofotometer yaitu β -karoten, Tipe feofitin, Klorofil a dan Tipe lutein dengan pengembang petroleum eter dan aseton (80:20). Jenis pigmen yang ditemukan dari ekstrak hasil pemisahan beda pelarut yaitu β -karoten, xanthofil (zeaxanthin dan Lutein), klorofil a dan klorofil c. Pigmen total dan pigmen tipe ekinenon memiliki aktivitas antibakteri pada 4 bakteri uji dari 15 bakteri yang diujikan yaitu *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella paratiphy b* dan *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disarankan perlu dilakukan penelitian lanjut tentang pemurnian terhadap jenis pigmen tipe ekinenon yang akan digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri serta Menentukan jenis – jenis pigmen dalam masa pertumbuhan alga coklat *Sargassum polycystum* (C.Agardh).

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M. 1997. Teknik Kromatografi (Untuk Analisa Bahan Makanan). Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Bold, H. dan M. J. Wynne., 1985, Introduction To The Algae, Prentice Hall Inc. Englewood Cliffs, New Jersey USA.

- Mantiri, D.H.M. 1997. Nature, Localization et Metabolisme des Carutenoides et des Complexs Caruteno Proteiques au Cours de Levolution Embryonnaire et Larvaire du Homnard European Humorus Gammarus (Linne 1758). Universite de Droit, D'Economic et des Sciences. D'aix Marseille Faculte des Sciences et Techniques de Saint Gerome. 154 hal
- Mantiri, D.M.H. dan B.J. Kepel, 1999, Beberapa Peranan Pigmen Karatenoid Vol. !, No. 3, Jurnal Fakultas Perikanan Unsrat.
- Mastjeh, S. 1999. TLC. Thin Layer Chromatography. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Anggrahini. 2002. Manfaat Alga Coklat. [www. Kompas .com/kompas - cetak/0307/23/bahari/431127.htm_43k](http://www.kompas.com/kompas-cetak/0307/23/bahari/431127.htm_43k).
- Setiabudy, R., H. udin, Sjamsudin dan Z. S. Bustami. 1980. Kombinasi Antimikroba. Fakultas kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Britton G., S. Liagen – Jansen and H. Pfander. 1995. Carotenoids. Volume 1B. Spectroscopy. Basel, Switzerland.